

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-271387

(43)Date of publication of application : 21.10.1997

(51)Int.Cl.

C12P 7/62
C07H 13/06
C12P 19/44

(21)Application number : 08-082398

(71)Applicant : LION CORP

(22)Date of filing : 04.04.1996

(72)Inventor : KOBAYASHI TETSUO
ITO YUTAKA
KOYAIZU YOSHIHISA
KONDO FUSAO

(54) PRODUCTION OF SUGAR FATTY ACID ESTER

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a method for producing a sugar fatty acid ester, capable of stably producing the sugar fatty acid ester in a high reaction rate by a continuous reaction using a lipase.

SOLUTION: This method for producing a sugar fatty acid ester comprises reacting at least a fatty acid compound selected from the group consisting of 6-22C saturated or unsaturated fatty acids and their esters with 1-3C lower alcohols with at least a saccharide selected from the group consisting of 5-7C monosaccharides, disaccharides comprising the alkylglucosides, hexoses or pentoses of the monosaccharides, the alkylglucosides of the disaccharides, 4-12C sugar alcohols and the derivatives of the sugar alcohols in the presence of a neutral and heat-resistant immobilized lipase in an organic solvent having a water content of 500-5,000ppm under vacuum.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-271387

(43) 公開日 平成9年(1997)10月21日

| (51) Int.Cl. ⁶ | 識別記号 | 庁内整理番号 | F I | 技術表示箇所 |
|---------------------------|------|--------|---------------|--------|
| C 1 2 P 7/62 | | | C 1 2 P 7/62 | |
| C 0 7 H 13/06 | | | C 0 7 H 13/06 | |
| C 1 2 P 19/44 | | | C 1 2 P 19/44 | |

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 6 頁)

| | | | |
|-----------|----------------|----------|--|
| (21) 出願番号 | 特願平8-82398 | (71) 出願人 | 000006769 ライオン株式会社 東京都墨田区本所1丁目3番7号 |
| (22) 出願日 | 平成8年(1996)4月4日 | (72) 発明者 | 小林 哲夫 東京都墨田区本所1丁目3番7号 ライオン株式会社内 |
| | | (72) 発明者 | 伊藤 裕 東京都墨田区本所1丁目3番7号 ライオン株式会社内 |
| | | (72) 発明者 | 小柳津 敬久 東京都墨田区本所1丁目3番7号 ライオン株式会社内 |
| | | (74) 代理人 | 弁理士 中村 稔 (外7名) 最終頁に続く |

(54) 【発明の名称】 糖脂肪酸エステルの製造方法

(57) 【要約】

【課題】 リパーゼを用いた連続反応により、安定的にかつ高い反応率で糖脂肪酸エステルを製造できる方法を提供する。

【解決手段】 炭素原子数6～22個の飽和及び不飽和脂肪酸、該脂肪酸と炭素原子数1～3個の低級アルコールとのエステルからなる群より選ばれる少なくとも1種の脂肪酸化合物、並びに炭素原子数5～7個の単糖類、該単糖類のアルキルグリコシド、ヘキソース又はペントースからなる二糖類、該二糖類のアルキルグリコシド、炭素原子数4～12個の糖アルコール、及び該糖アルコールの誘導体からなる群より選ばれる少なくとも1種の糖類を、減圧下で、水分含有量が500～5,000ppの有機溶媒系中において、中性耐熱性固定化リパーゼを用いて反応させることを特徴とする糖脂肪酸エステルの製造方法。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 炭素原子数6～22個の飽和及び不飽和脂肪酸、該脂肪酸と炭素原子数1～3個の低級アルコールとのエステルからなる群より選ばれる少なくとも1種の脂肪酸化合物、並びに炭素原子数5～7個の単糖類、該単糖類のアルキルグリコシド、ヘキソース又はペントースからなる二糖類、該二糖類のアルキルグリコシド、炭素原子数4～12個の糖アルコール、及び該糖アルコールの誘導体からなる群より選ばれる少なくとも1種の糖類を、減圧下で、水分含有量が500～5,000ppmの有機溶媒系中において、中性耐熱性固定化リパーゼを用いて反応させることを特徴とする糖脂肪酸エステルの製造方法。

【請求項2】 糖類を水溶液で供給する請求項1記載のエステルの製造方法。

【請求項3】 20℃における水の溶解度が1%以上、15%未満であり、沸点が100℃以上である有機溶媒を用いる請求項1記載のエステルの製造方法。

【請求項4】 反応系内の圧力を、エステル反応温度における有機溶媒の蒸気圧より10mmHg高い圧力以下とする請求項1記載のエステルの製造方法。

【請求項5】 エステル反応温度が40℃～90℃である請求項1記載のエステルの製造方法。

【請求項6】 糖類の水溶液、脂肪酸化合物及び有機溶媒を、それぞれ単独で、又は混合して連続的に反応系内に供給する請求項1記載のエステルの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明が属する技術分野】 本発明は、リパーゼを用いた連続反応により、糖脂肪酸エステルを製造する方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 本来、油脂の加水分解酵素であるリパーゼは、一方で水が存在しない条件下では逆反応を起こし、エステル合成反応、及びエステル交換反応を触媒する。このようなリパーゼの性質を利用して、無溶媒、あるいは水をほとんど含まない有機溶媒の存在下でエステル合成、及びエステル交換反応を行い糖類の脂肪酸エステルを製造する技術が開発されてきた（特開昭61-268192号公報、特開昭62-10779号広報、J. Am. Chem. Soc., 第108巻、第5638頁(1986年)）。本件出願人もケトン系溶媒とリパーゼを用いて糖類の脂肪酸エステルを製造する方法を開発し、出願を行っている（特願平7-333191号）。さらにこれを用いた連続反応方式を出願（特願平8-35164号）した。しかし、無溶媒、あるいは水をほとんど含まない有機溶媒の存在下で、リパーゼによるエステル化反応を行うと、長期にわたる高い反応率を確保することが難しく、糖脂肪酸エステルを工業レベルで安価かつ安定的に供給することが難しいという問題があった。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 本発明はリパーゼを用いた反応により、安定的にかつ高い反応率で糖脂肪酸エステルを製造できる方法を提供する。

【0004】

【課題を解決するための手段】 本発明者らが、無水に近い状態でリパーゼの活性発現が低下し易く、かつ長期にわたる高い反応率を確保することが困難であるという問題を検討した結果、酵素の活性発現、安定化には至適量の水分が必要であり、リパーゼを用いる糖脂肪酸エステルの合成反応系から必要な水分を奪うとリパーゼの安定性が損なわれ、活性が低下し、所望の反応率を確保することができないことを見出した。そして、このような問題点を解決するために研究を行った結果、特定の水分溶解性を有する有機溶媒に、所定量の水分を保持させ、そこでリパーゼを反応させることにより、リパーゼの活性低下を防ぎ、かつ長期にわたって高い反応率を確保出来るという知見を得た。

【0005】 したがって、本発明は、炭素原子数6～22個の飽和及び不飽和脂肪酸、該脂肪酸と炭素原子数1～3個の低級アルコールとのエステルからなる群より選ばれる少なくとも1種の脂肪酸化合物、並びに炭素原子数5～7個の単糖類、該単糖類のアルキルグリコシド、ヘキソース又はペントースからなる二糖類、該二糖類のアルキルグリコシド、炭素原子数4～12個の糖アルコール、及び該糖アルコールの誘導体からなる群より選ばれる少なくとも1種の糖類を、減圧下で、水分含有量が500～5,000ppmの有機溶媒系中において、中性耐熱性固定化リパーゼを用いて反応させることを特徴とする糖脂肪酸エステルの製造方法を提供する。特に、本発明は、20℃における水の溶解度が1%以上、15%未満であり、沸点が水の沸点以上、すなわち100℃以上である有機溶媒を用いることで減圧下効率よく水分を除去し、しかも必要な水分量を維持し酵素を長時間にわたり安定化することを可能とした糖脂肪酸エステルの製造方法を提供するものである。以下、本発明を詳細に説明する。

【0006】 本発明で用いる脂肪酸化合物は、炭素原子数6～22個の飽和及び不飽和脂肪酸、該脂肪酸と炭素原子数1～3個の低級アルコールとのエステルからなる群より選ばれる少なくとも1種の脂肪酸化合物であり、通常の油脂類中に存在するもの以外の有機酸をも含む。この飽和及び不飽和脂肪酸の例を挙げると、カプロン酸、ソルビン酸、カプリル酸、カプリン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、イソステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレイン酸、エイコサン酸、ドコサン酸、アラキドン酸などがあり、置換基を有する例を挙げると、水酸基をもつリノレイン酸、ジヒドロキシステアリン酸、カルボキシル基をもつマロン酸、マレイン酸、コハク酸、グルタル酸、

アジピン酸、ピメリン酸、スベリン酸、アゼライン酸、セバシン酸などがある。

【0007】また、前記脂肪酸を、メタノール、エタノール、及びプロパノールなどの炭素原子数1～3個の低級アルコールと反応させたエステルを用いることができる。このエステルの例を挙げると、カプロン酸メチル、カプリル酸メチル、カプリン酸エチル、ラウリン酸メチル、ミリスチン酸メチル、パルミチン酸メチル、ステアリン酸メチル、オレイン酸メチル、カプロン酸エチル、カプリル酸エチル、カプリン酸エチル、ラウリン酸エチル、ミリスチン酸エチル、パルミチン酸エチル、ステアリン酸エチル、オレイン酸エチル、ラウリン酸プロピル、ミリスチン酸プロピル、パルミチン酸プロピル、ステアリン酸プロピル、オレイン酸プロピルなどがある。本発明では、これらの脂肪酸及びそのエステルを単独で、又は2種以上を組合わせて用いることができる。

【0008】また、本発明で用いる糖類は炭素原子数5～7個の単糖類、該単糖類のアルキルグリコシド、ヘキソース又はペントースからなる二糖類、該二糖類のアルキルグリコシド、炭素原子数4～12個の糖アルコール、及び該糖アルコールの誘導体からなる群より選ばれる少なくとも1種の糖類である。ここで具体的な糖類の例を挙げると、炭素原子数5個の単糖類としては、アラビノース、リボース、キシロース、リキソース、キシロース、リブロースなどがあり、炭素原子数6個の単糖類としてグルコース、ガラクトース、フラクトース、マンノース、ソルボース、タロースなどがあり、炭素原子数7個の単糖類としてアロヘブツロース、セドヘブツロース、マンノヘブツロースなどがある。さらに、これらの単糖類のアルキルグリコシドは、メチル、エチル、プロピル、ブチル基などの炭素原子数が1～6個のアルキル基を有するのが好ましく、直鎖、分岐、飽和、不飽和、非置換、置換のいずれのアルキルグリコシドでもよい。このアルキルグリコシドの例を挙げると、メチルアラビノシッド、メチルキシロシッド、メチルグルコシド、メチルガラクトシド、メチルフラクトシド、エチルアラビノシッド、エチルキシロシッド、エチルグルコシド、エチルガラクトシド、エチルフラクトシドなどがある。

【0009】ヘキソース又はペントースからなる二糖類の例を挙げると、ショ糖、トレハロース、マルトース、セロビオース、ラクトース、キシロビオース、イソマルトース、ゲンチビオース、メリビオース、ブランテオビオース、ルチノース、プリメベロース、ビスアノース、ニゲロース、ラミナリビオース、ツラノース、コージビオース、ソホロースなどがある。また、これら二糖類のアルキルグリコシドのアルキルグリコシドは、メチル、エチル、プロピル、ブチル基などの炭素原子数が1～6個のアルキル基を有するものが好ましく、直鎖、分岐、飽和、不飽和、非置換、置換のいずれのアルキルグリコシドでもよい。また、糖アルコールの例を挙げると、エ

リスリトール、リビトール、キシリトール、アリトール、ソルビトール、マンニトール、ガラクトール、マルチトール、ラクチトールなどがあり、またその誘導体としてはソルビタン、ソルバイド、マルチタンなどがある。本発明ではこれらの糖類を単独で、又は2種以上を組合わせて用いることができる。

【0010】本発明における反応時の糖類と脂肪酸化合物との混合比は、糖類1モルに対し脂肪酸化合物0.1～100モルの範囲で適宜選択できるが、好ましくは0.1～10モル、特に好ましくは1～5モルの範囲である。また、糖類の水溶液濃度は1～99%の範囲で適宜選択できるが、好ましくは20～90%、特に好ましくは40～70%の範囲である。さらに本発明で用いるリパーゼは、従来この種の反応に用いられているものを特に制限なく使用できる。例えば、豚膵臓リパーゼ、キャンディダ属由来の酵母リパーゼ、アスペルギルス属、ムコール属等のカビリパーゼ、シュードモナス属等の細菌リパーゼなどであり、さらに該リパーゼを遺伝子操作等で改変したものも含まれる。なお、本発明で用いる、中性耐熱性リパーゼとは、リパーゼ粉末50mgを0.4mlのリン酸バッファー(0.1M、pH7)に溶解し、70℃で30分間加熱した後の残存活性が40%以上、好ましくは80%以上、さらに好ましくは95%以上の耐熱性を有し、加水分解活性がpH5.0～10.0、より好ましくはpH5.5～9.5の範囲で最大値を示すものである。このような耐熱性リパーゼとしてはキャンディダ・アンタラクティカ(*Candida antarctica*)由来の耐熱性リパーゼ、ムコール・マイハイ(*Mucor miehei*)由来の耐熱性リパーゼなどがある。

【0011】なお、これらのリパーゼは精製酵素でも粗酵素でもよい。その固定化方法も担体結合法、架橋法、包括法のうちいずれの方法でもよいが、特に担体結合法が活性発現などの点からも好ましい。固定化担体の例を挙げると、活性炭、多孔性ガラス、酸性白土、漂白土、カオリナイト、アルミナ、シリカゲル、ベントナイト、ヒドロキシアパタイト、リン酸カルシウム、金属酸化物等の無機物質、デンプン、グルテン等の天然高分子、ポリエチレン、ポリプロピレン、フェノールフォルムアルデヒド樹脂、アクリル樹脂、アニオン交換樹脂、カチオン交換樹脂などの合成高分子などがある。本発明ではこの担体として多孔性の合成高分子、例えば、多孔性ポリエチレン、多孔性ポリスチレン、多孔性ポリプロピレン、多孔性フェノールフォルムアルデヒド樹脂、多孔性アクリル樹脂などの使用が好ましい。本発明における反応時の固定化リパーゼの使用量は適宜選択でき制限はないが、上記糖類100重量部に対し、0.1～10000重量部、好ましくは1～2000重量部の範囲とするのが適当である。

【0012】本発明で用いる有機溶媒は、表1に示すように、沸点が水の沸点以上、すなわち100℃以上であ

り、20℃における水の溶解度が1%以上、15%未満のものが良く、特に5%以上、15%未満のものが良い。このように水の溶解度を規定するのは、1%未満では糖類の水溶液を供給した場合、水の系外への除去が充分に行われず、糖類が水分を保持した状態で凝集し、水分は液滴となって系中に存在するため、エステル化反応は進行し難くなるからであり、溶解度が15%以上あると親水性溶媒の作用により酵素の失活が著しくなり短時間で活性がなくなり、安定性が期待できない傾向が生じるからである。本発明の条件を満たす溶媒の例を挙げると、1-ペンタノール、2-ペンタノール、2-メチル-1-ブタノール、2-メチル-1-ペンタノール、1-ヘプタノール、2-ヘプタノール、2-エチル-1-ヘキサノールなどのアルコール類、2-ペンタノン、3-ペンタノン、2-ヘキサノン、メチルイソブチルケトン、2-ヘプタノン、メシチルオキシド、シクロヘキサノン、メチルシクロヘキサノンなどのケトン類、ニトロメタン、プロピオニトリル、アニリン、o-トルイジン、ピロールなどがある。本発明ではこれらの溶媒を単独で、又は2種以上を組合わせて用いることができる。

【0013】前記溶媒を用い、反応系内の圧力を、エステル反応温度における有機溶媒の蒸気圧より10mmHg高い圧力以下とする。これにより有機溶媒中の水分濃度を容易に、200-5000ppmに維持でき、リパーゼの必須水分が保たれ安定な酵素活性が確保できる。有機溶媒は、原料やリパーゼが反応槽中を移動循環して反応が促進される程度に使用するのがよく、特に制限はないが、例えば反応系の1~99% (W/W)、特に10~95% (W/W) 程度用いるのが好ましい。なお、本発明におけるエステル生成反応は低温でも進行するが、反応速度を高めるために反応温度は40~90℃、好ましくは50~90℃の範囲がよい。当該反応温度においても耐熱性固定化リパーゼを用いることで酵素の失活等を回避し、効率的な反応を維持することができる。

【0014】本発明における脂肪酸エステル製造は次のように行うことができる。例えば、固定化リパーゼをカラムに充填し、これに原料溶液及び有機溶媒を供給し反応させる充填カラム式、攪拌槽を用いた四分方式、攪拌槽中で酵素と原料を反応させ、これに原料又は原料溶液及び有機溶媒を個別あるいは混合して連続的に系内に供給し反応させる連続攪拌槽式があり、いずれの方式を採用しても反応を行うことができる。さらに、上記反応方式は反応槽1槽でも多段連続でもいずれの方式でも行うことができる。また、本発明の酵素反応では水又は炭素原子数1~3個の低級アルコールが副生するが反応を効率的に進めるためにはこの副生物を除去する必要がある。これらの副生物を除去する方法としては、例えばゼオライト、モレキュラーシーブス、ぼう硝などを用いる吸着除去方法、乾燥空気や不活性ガスを反応槽中に通気し、気体中に蒸発除去する方法、又は反応器内を減圧し蒸発させて反応系外に排出する方法などあり、特に反応器内を減圧し蒸発させて反応系外に排出する方法が好ましい。このときの圧力は、反応温度における使用溶媒の蒸気圧よりも10mmHg高い圧力以下とするのがよい。なお、反応終了後は通常の方法で反応生成物中から糖類の脂肪酸エステルを分離・採取することができる。このようにして得られた糖類の脂肪酸エステルは優れた界面活性剤であり、家庭品、化粧品、化粧品、食品、医薬品等の広範な分野に洗浄剤、乳化剤などとして使用することができる。

【0015】

【発明の効果】本発明の方法により、リパーゼを用いた連続反応により、糖類の脂肪酸エステルを安定的にかつ高い反応率で製造することができる。以下、実施例と比較例を示して本発明を具体的に説明するが、下記実施例は、本発明の範囲を制限するものではない。

【0016】

【表1】

溶媒の水溶解度及び沸点

| 溶媒名 | 水溶解度(20℃) | 沸点(℃) |
|----------------|-----------|-------|
| 1-ペンタノール | 7.2(30℃) | 138 |
| 2-ペンタノール | 8.8(30℃) | 119 |
| 2-メチル-1-ブタノール | 8.3 | 128 |
| 2-メチル-1-ペンタノール | 5.4 | 148 |
| 1-ヘプタノール | 5.1 | 176 |
| 2-ヘプタノール | 5.8 | 160 |
| 2-エチル-1-ヘキサノール | 2.6 | 184 |
| 2-ヘキサノン | 2.1 | 127 |
| メチルイソブチルケトン | 1.9 | 115 |
| 2-ヘプタノン | 1.4 | 150 |
| メシチルオキシド | 2.9 | 129 |
| シクロヘキサノン | 9.5 | 155 |
| メチルシクロヘキサノン | 3.0 | 169 |
| ニトロメタン | 2.2 | 101 |

| | | |
|---------|-----|-----|
| アニリン | 3.5 | 184 |
| o-トルイジン | 1.7 | 200 |
| ピロール | 8.0 | 129 |

| 比較溶媒 | 水溶解度 (20℃) | 沸点 (℃) |
|----------------|------------|--------|
| 4-ヘプタノン | 0.9 | 144 |
| N,N-ジメチルホルムアミド | ∞ | 153 |

【0017】

【表2】シクロヘキサノン蒸気圧

| 温度 (℃) | 蒸気圧 (mmHg) |
|--------|------------|
| 40 | 11 |
| 50 | 18 |
| 60 | 28 |
| 70 | 45 |
| 80 | 68 |

【0018】

【実施例】1000ml容量の角形四ツ口フラスコを用いた攪拌槽型反応装置にキャンディダ・アンタラクティカ (*Candida antarctica*)由来の中性耐熱性固定化リパーゼ Novozym 4356.0g、カプリン酸メチル59g、シクロヘキサノン574gを仕込み、反応温度70℃、圧力40mmHg、攪拌速度300rpmの条件下で各原料貯槽から50%メチルグルコシド水溶液を0.35g/分、カプリン酸メチルを0.25g/分、シクロヘキサノンを2.40g/分の速度で反応槽に供給し、同時に留出液、反応液を連続的に抜き出す方法で反応を行った。経時的にサンプリングをし、反応液0.1mlをスクリュウ管にとり、ピリジン0.2ml、内部標準物質としてn-ドコサン50μlを加え、さらに無水酢酸0.4mlを加え、80℃で30分間反応させた。反応液1μlをガスクロマトグラフィーにより分析し、メチルグルコシドカプリン酸エステルの生成量を測定し、次式のように反応率を算出し、結果を表3に示した。また、反応液の水分濃度をカールフィッシャー水分計で測定し併せて表に示した。

$$\text{反応率 (\%)} = a / b \times 100$$

a : 生成した糖類の脂肪酸エステルのモル数

b : 残存糖原料のモル数+生成した糖類の脂肪酸エステルのモル数

【0019】(実施例2)糖原料をエチルグルコシドとしその他の条件を実施例1と同様とし、エチルグルコシドカプリン酸エステルの製造を行った。結果を表3に示した。

(実施例3)糖原料をソルビトール：ソルビタン：ソルバイド(重量比0.5：1.5：8)のものを使用し、その他の条件を実施例1と同様にして、ソルビタン混合物とカプリン酸のエステルの製造を行った。結果を表3に示した。

(実施例4)脂肪酸化合物をオレイン酸メチルとしその他の条件を実施例1と同様とし、メチルグルコシドオレイン酸エステルの製造を行った。結果を表3に示した。

(実施例5)リパーゼをムコール・ミーハイ (*Mucor miehei*)由来の中性耐熱性固定化リパーゼLipozymeを使用し、その他の条件を実施例1と同様とし、メチルグルコシドカプリン酸エステルの製造を行った。結果を表3に示した。

(比較例1)有機溶媒に4-ヘプタノンを使用し、その他の条件を実施例1と同様とし、メチルグルコシドカプリン酸エステルの製造を行った。結果を表3に示した。

(比較例2)有機溶媒にN,N-ジメチルホルムアミドを使用し、その他の条件を実施例1と同様とし、メチルグルコシドカプリン酸エステルの製造を行った。結果を表3に示した。

【0020】

【表3】

| 実施例 (時間) | 反応率 (%) | | | 水分 (ppm) | | |
|-------------|---------|----|----|----------|------|------|
| | 2 | 10 | 50 | 2 | 10 | 50 |
| 実施例 1 | 60 | 92 | 93 | 2500 | 2900 | 2600 |
| 2 | 62 | 93 | 91 | 3100 | 2900 | 2800 |
| 3 | 54 | 86 | 90 | 3400 | 3800 | 3000 |
| 4 | 59 | 90 | 92 | 4000 | 3500 | 3100 |
| 5 | 56 | 87 | 88 | 4100 | 4000 | 3900 |
| 比較例 1 | 20 | 15 | 2 | 水滴分散 | 7000 | 8000 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 300 | 200 | 200 |

【0021】(実施例6)実施例1で反応した酵素を回収し、回収酵素100mgにメチルグルコシド1g(5.1mM)、カプリン酸メチル2.85g(15.3mM)を30ml用容の共栓付き三角フラスコに取り、これにピリジン2ml

加え、70℃で10分間反応し、初速度を測定し、以下の式に従い残存活性を求めた。結果を表4に示した。

$$\text{残存活性 (\%)} = c / d \times 100$$

c : 反応後酵素100mgの活性

d : 未使用酵素 100mg の活性

(比較例 3) キャンディダ・アンタールクティカ (*Candida antarctica*) 由来の中性耐熱性固定化リパーゼ 100mg, メチルグルコシド 1g (5.1mM)、カプリン酸メチル 2.85g (15.3mM)、モレキュラー・シープス 5A5g を 30ml 用容の共栓付き三角フラスコに取り、これにピリジン 2ml 加え、70℃で 10 時間反応した。反応終了後反応液を抜き取り、新たな反応液を加え繰り返し反応

を 10 時間単位で 5 回繰り返した。反応後、酵素を回収し、これにメチルグルコシド 1g (5.1mM)、カプリン酸メチル 2.85g (15.3mM) を 30ml 用容の共栓付き三角フラスコに取り、これにピリジン 2ml 加え、70℃で 10 分間反応し、初速度を測定し、残存活性を求めた。結果を表 4 に示した。

【0022】

【表 4】

| | 実施例 6 | 比較例 3 |
|----------|--------------|------------------------|
| | 反応 50 時間後の活性 | 回分反応 5 回, 反応 50 時間後の活性 |
| 残存活性 (%) | 93 | 30 |

フロントページの続き

(72) 発明者 近藤 房男
東京都墨田区本所 1 丁目 3 番 7 号 ライオン株式会社内